



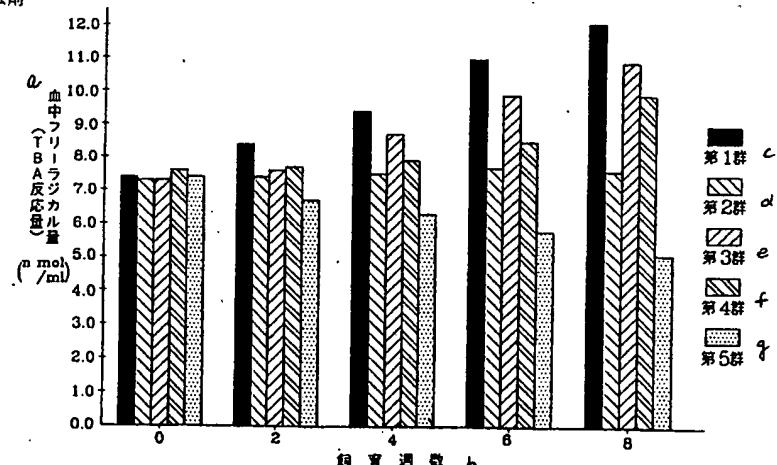
## 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類 5 A61K 35/78	A1	(11) 国際公開番号 WO 94/09801
		(43) 国際公開日 1994年5月11日 (11.05.94)
(21) 国際出願番号 PCT/JP93/01525		
(22) 国際出願日 1993年10月21日 (21. 10. 93)		
(30) 優先権データ 特願平4/295336 1992年11月4日 (04. 11. 92) JP		
(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 株式会社 スカイ・フード (SKY-FOOD CO., LTD.) [JP/JP] 〒555 大阪府大阪市西淀川区野里一丁目10番8号 Osaka, (JP)		
(72) 発明者; および		
(73) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 戸ヶ崎恵一 (TOGASAKI, Keiichi) [JP/JP] 〒559 大阪府大阪市住之江区南港中三丁目8番24-409 Osaka, (JP)		
(74) 代理人 弁護士 足立 勉 (ADACHI, Tsutomu) 〒460 愛知県名古屋市中区錦二丁目9番27号 名古屋鐵道ビル7階 Aichi, (JP)		
(81) 指定国 AU, KR, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).		
添付公開書類	国際調査報告書	

## (54) Title : FREE ACTIVE OXYGEN RADICAL SCAVENGER

## (54) 発明の名称 活性酸素フリーラジカル消去剤

- a ... Blood free radical level  
(TBA reaction value)
- b ... Feeding period (unit: week)
- c ... Group 1
- d ... Group 2
- e ... Group 3
- f ... Group 4
- g ... Group 5



## (57) Abstract

A free active oxygen radical scavenger to be used for efficiently removing free active oxygen radicals generated *in vivo*. Although the group 3 of rats fed with both of a diet enriched with free active oxygen radical species and  $\beta$ -carotene and the group 4 of rats fed with both of the enriched diet and a green tea leaf extract have enjoyed a reduction in the free active oxygen radical content (TBA reaction value) to some extent as compared with the group 1 of rats fed with only the enriched diet, a significant increase in the radical content (TBA reaction value) is observed after 8 weeks. The group 2 of rats fed with a basal diet do not undergo any significant change in this respect. On the contrary, the group 5 of rats fed with all of the enriched diet,  $\beta$ -carotene and the green tea leaf extract have enjoyed a reduction in the radical content (TBA reaction value). Thus the simultaneous administration of  $\beta$ -carotene and the green tea leaf extract enables free active oxygen radicals to be scavenged efficiently.

(57) 要約

体内で発生する活性酸素フリー・ラジカルを良好に消去することができる活性酸素フリー・ラジカル消去剤を提供することを目的とする。活性酸素フリー・ラジカル増加食と $\beta$ -カロチンとをラットに投与した第3群、活性酸素フリー・ラジカル増加食と緑茶葉抽出物とを投与した第4群では、活性酸素フリー・ラジカル増加食のみを投与した第1群に比べて幾分活性酸素フリー・ラジカル量(TBA反応量)の増加を抑制することができるが、8週間では有意の活性酸素フリー・ラジカル量(TBA反応量)増加がみられる。基礎飼料を投与した第2群では有意な変化はみられない。これに対して、活性酸素フリー・ラジカル増加食と $\beta$ -カロチンと緑茶葉抽出物とを投与した実施例の第5群では活性酸素フリー・ラジカル量(TBA反応量)を実験開始時より低下させることができた。 $\beta$ -カロチンと緑茶葉抽出物とを同時に投与することにより活性酸素フリー・ラジカルを良好に消去する。

情報としての用途のみ  
PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第1頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

AT オーストリア	CS チェコスロバキア	KR 大韓民国	PL ポーランド
AU オーストラリア	CZ チェコ共和国	KZ カザフスタン	PT ポルトガル
BB バルバードス	DE ドイツ	LI リヒテンシュタイン	RO ルーマニア
BE ベルギー	DK デンマーク	LK スリランカ	RU ロシア連邦
BF ブルキナ・ファソ	ES スペイン	LU ルクセンブルグ	SD スーダン
BG ブルガリア	FI フィンランド	LV ラトヴィア	SE スウェーデン
BJ ベナン	FR フランス	MC モナコ	SI スロヴェニア
BR ブラジル	GA ガボン	MG マダガスカル	SK スロバキア共和国
BY ベラルーシ	GB イギリス	ML マリ	SN セネガル
CA カナダ	GN ギニア	MN モンゴル	TD チャード
CF 中央アフリカ共和国	GR ギリシャ	MR モーリタニア	TG トーゴ
CG コンゴー	HU ハンガリー	MW マラウイ	UA ウクライナ
CH スイス	IE アイルランド	NE ニジール	US 米国
CI コート・ジボアール	IT イタリー	NL オランダ	UZ ウズベキスタン共和国
CM カメルーン	JP 日本	NO ノルウェー	VN ベトナム
CN 中国	KP 朝鮮民主主義人民共和国	NZ ニュー・ジーランド	

## 明 細 書

## 活性酸素フリー ラジカル消去剤

## 技術 分野

本発明は、生体内の代謝系で発生する活性酸素フリー ラジカルを消去する活性酸素フリー ラジカル消去剤に関する。

## 背景 技術

生体内の代謝系で発生する活性酸素フリー ラジカルは、核酸、タンパク質、ヌクレオチド、アミノ酸、糖、有機酸などを攻撃し、動脈硬化、炎症、脳卒中、発癌、放射線障害、白内症、老化などに深く関与することが知られている。

従来よりこの種の活性酸素フリー ラジカルを消去する活性酸素フリー ラジカル消去剤として、緑茶葉から抽出したカテキンが有効であることが知られている（「Fragrance J.」 フレグランスジャーナル社版）。

また、カロチノイド色素にも、活性酸素フリー ラジカルの消去作用があることが近年判明してきた（「日本水産学会平成4年春期講演要旨集」

日本水産学会版)。

ところがこの種の活性酸素フリー ラジカル消去剤では、体内で発生する活性酸素フリー ラジカルを充分に消去することができず、動脈硬化などを確実に抑制することができなかった。

そこで本発明は体内で発生する活性酸素フリー ラジカルを良好に消去することができる活性酸素フリー ラジカル消去剤を提供することを目的としてなされた。

#### 発明の開示

上記目的を達するためになされた本発明はエピガロカテキンガレートを含む緑茶葉抽出物と、

カロチノイド色素と、  
を含有することを特徴とする活性酸素フリー ラジカル消去剤を要旨としている。

本願発明者は、種々の化学物質に関して活性酸素フリー ラジカルの消去作用を測定した結果、エピガロカテキンガレートを含む緑茶葉抽出物とカロチノイド色素とを同時に投与した場合、それら

を単独で投与した場合に比べて、活性酸素フリー  
ラジカルの消去作用が飛躍的に向上することを発  
見した。なお、ここでカロチノイド色素とは、動  
物組織、植物組織に由来するものであって、例え  
ば $\beta$ -カロチン、アスタキサンチン、カントキサ  
ンチンなどを指し、またそれらの種々の異性体、  
例えば $\beta$ -カロチンであれば全トランス形、9  
-シス形、13-シス形、15-シス形、などを  
全て含む。

本発明は、エピガロカテキンガレートを含む緑  
茶葉抽出物と、カロチノイド色素とを含有してい  
るので、活性酸素フリー ラジカルに対し良好な消  
去作用を有する。

なお、緑茶葉抽出物 カロチノイド色素の配合  
量は、例えばこれらを水中に分散させた場合、緑  
茶葉抽出物 カロチノイド色素共に0.01~1  
0.00重量%とするのが好ましく、更にアスコ  
ルビン酸、ビタミンE、ひまわり種子抽出物など  
の抗酸化剤、香料などを添加してもよい。

また上記緑茶葉抽出物およびカロチノイド色素

の分散方法としては、例えばキサンタンガム、グアーガム、カルボキシメチルセルロース、サポニン、脂肪酸エステル類、大豆蛋白などを添加し周知のホモジナイザなどを用いて分散・安定化する方法が適用できる。

形態を固形または粉体などにする場合のそれぞれの配合量は、任意の配合が可能で、水中に分散させた場合と同様に、アスコルビン酸、ビタミンE、ひまわり種子抽出物などの抗酸化剤、香料などを添加してもよく、乳糖、デキストリン、食品素材などと混合して分散させるなど種々の方法が適用できる。

#### 図面の簡単な説明

図1は実施例の活性酸素フリー・ラジカル消去剤の作用を表すグラフである。

発明を実施するための最良の形態  
以下本発明の実施例を図面と共に説明する。

活性酸素フリー・ラジカルの発生源は多種存在するが、リノール酸などの不飽和脂肪酸もその一つである。不飽和脂肪酸は、その不安定性により容

易に活性酸素フリーラジカルの一種である過酸化物となり、活性酸素フリーラジカルを生成・増加させる。そこで本願発明者は、次に示す活性酸素フリーラジカル増加食を投与したラット体内の、活性酸素フリーラジカル（過酸化物）量を測定する動物実験により本発明の効果を測定した。実験に使用した動物及び実験方法は以下の通りである。

実験動物：6週齢の雄のWistar系ラット。

実験方法：以下の実験区に示す試料を、各実験区毎25尾の上記ラットにカテーテルにより8週間に渡り経口投与した。なお、以下の実験区において、活性酸素フリーラジカル増加食とは、基礎飼料としての固形飼料MF（商品名：オリエンタル酵母工業株式会社製）にリノール酸5重量%を添加したものである。また、緑茶葉抽出物とは、日本産緑茶葉を酢酸エチルで抽出した後、濾過・粉末化したものである。この緑茶葉抽出物は固形分98%であり、主要成分としてエピガロカテキンガレートを含有しているが微量成分は不明である。

## 実験区：

## 第1群（比較例）

活性酸素フリーラジカル増加食のみ

## 第2群（比較例）

基礎飼料（固体飼料MF）のみ

## 第3群（比較例）

活性酸素フリーラジカル増加食

+  $\beta$ -カロチン 2 mg / kg 体重・日

## 第4群（比較例）

活性酸素フリーラジカル増加食

+ 緑茶葉抽出物 102 mg / kg 体重・日

## 第5群（実施例）

活性酸素フリーラジカル増加食

+  $\beta$ -カロチン 2 mg / kg 体重・日

+ 緑茶葉抽出物 100 mg / kg 体重・日

上記試料を投与しながら、2週間毎に血液中の活性酸素フリーラジカル量（TBA反応量）の変化を観察した。観察結果を図1に示す。なお、上記活性酸素フリーラジカル量（TBA反応量）の測定方法は、以下に示す通りである。

ラットにエーテル麻酔を施し、EDTA（エチレンジアミン四酢酸）存在下で腹部大動脈より採血した。その血液を遠心分離することによって採取した血漿を、TBA（チオバルビツール酸）と反応させ、比色判定により活性酸素フリーラジカル量（TBA反応量）を測定した。なお、TBA反応による活性酸素フリーラジカル量（TBA反応量）測定方法は八木らの方法（Ohkawa, Y., Ohhashi, N., and Yagi, K.: Anal. Biochem., 95, 351, (1979)）に準じた。

図1に示すように、活性酸素フリーラジカル増加食と共に $\beta$ -カロチンまたは緑茶葉抽出物のいずれか一方のみを投与した第3群および第4群では、活性酸素フリーラジカル増加食のみを投与した第1群に比べて幾分活性酸素フリーラジカル量（TBA反応量）の増加を抑制することができるが、それでもなお、8週間では有意の活性酸素フリーラジカル量（TBA反応量）増加がみられる（約2.4～3.7 nmol/m1）。これに対

して本実施例の第5群では、活性酸素フリー ラジカル増加食を投与しているにも関わらず、約2.2 nmol/mIと、活性酸素フリー ラジカル量(TBA反応量)を実験開始時より有意に低下させることができた。なお、基礎飼料のみを投与した第2群では有意な変化はみられない。

この実験結果より、緑茶葉抽出物およびβ-カロチンを含有する実施例の活性酸素フリー ラジカル消去剤を投与することによって、リノール酸が酸化物となり活性酸素フリー ラジカル化するのを良好に防止することができるのが判る。また、基礎飼料のみを投与した第2群の活性酸素フリー ラジカル量(TBA反応量)が、本実施例の第5群に比べて増加しているのは、基礎飼料に含まれる主に脂質が体内で過酸化物となり、活性酸素フリー ラジカル化したためと考えられる。このように、上記実験から、実施例の活性酸素フリー ラジカル消去剤を投与することによって、生体内の活性酸素フリー ラジカルをきわめて良好に消去できることが判る。

従つて、本実施例の活性酸素フリーラジカル消去剤では、活性酸素フリーラジカルを良好に消去して、炎症、脳卒中、動脈硬化、発癌、放射線障害、白内症、老化などを防止することができる。

また、本実施例の活性酸素フリーラジカル消去剤は次に述べるよう天然の食品添加物として使用できる。このため産業上の用途が著しく広い。

例えば応用例1～3に示す配合の活性酸素フリー ラジカル消去飲料を製造することができる。

応用例1：

緑茶葉抽出物	5 重量 %
β-カロチン油	0. 01 重量 %
脂肪酸エステル（分散剤）	1 重量 %
水	9 3. 99 重量 %

応用例2：

緑茶葉抽出物	5 重量 %
β-カロチン油	0. 01 重量 %
アスコルビン酸	1 重量 %
脂肪酸エステル（分散剤）	1 重量 %
水	9 2. 99 重量 %

## 応用例3:

緑茶葉抽出物	5 重量 %
ひまわり種子抽出物	2 重量 %
$\beta$ -カロチン	0. 50 重量 %
アスコルビン酸	1 重量 %
アルファトコフェロール	0. 5 重量 %
脂肪酸エステル(分散剤)	1 重量 %
水	90. 00 重量 %

また応用例4に示す配合の活性酸素フリー ラジカル消去食品を製造することもできる。

## 応用例4:

緑茶葉抽出物	1.5 重量 %
ひまわり種子抽出物	1.5 重量 %
$\beta$ -カロチン油	1 重量 %
アスコルビン酸	5 重量 %
胡麻粉末	60 重量 %
乳糖	4 重量 %

本実施例の活性酸素フリー ラジカル消去剤はひまわり種子抽出物 アスコルビン酸 アルファトコフェロールなどと容易に混和でき、混和によつ

てその作用を減ずることなく上記応用例に例示するような飲料、食品などを作ることができる。また茶および $\beta$ -カロチンは古来より食品として飲食されているので、本実施例の活性酸素フリーラジカル消去剤は極めて安全性に優れているといえる。

なお、上記実施例では、カロチノイド色素として $\beta$ -カロチンを使用しているが、この他のカロチノイド色素、例えばアスタキサンチン、カンタキサンチンなどを使用しても同様の効果が得られる。また、この場合も、同様の活性酸素フリーラジカル消去飲料および活性酸素フリーラジカル消去食品を製造することができる。

#### 産業上の利用可能性

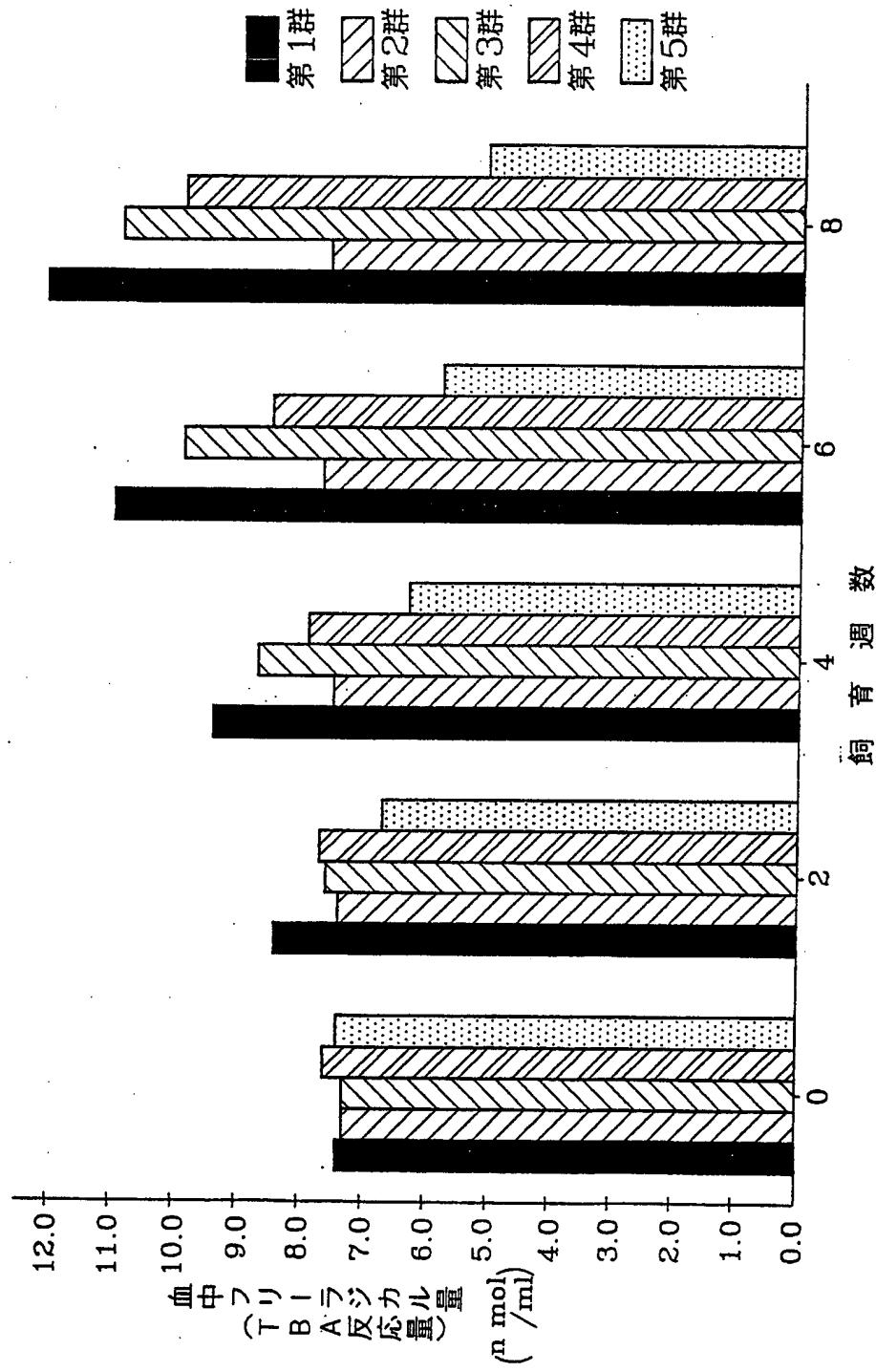
以上詳述したように本発明の活性酸素フリーラジカル消去剤は、エピガロカテキンガレートを含む緑茶葉抽出物と、カロチノイド色素と、を含有している。これらは単独でも活性酸素フリーラジカル消去作用を有しているが、その作用は乏しく、両者を混合することによりこの作用は飛躍的に高

まり、治療効果、予防効果が実用的になる。すな  
わち、本発明の活性酸素フリー ラジカル消去剤は  
動脈硬化、炎症、脳卒中、発癌、放射線障害、白  
内症、老化などの原因になる活性酸素フリー ラジ  
カルを良好に消去することができる。また茶およ  
びカロチノイド色素は古来より食品として飲食さ  
れているので、本発明の活性酸素フリー ラジカル  
消去剤は極めて安全性に優れているといえる。

## 請求の範囲

1. エピガロカテキンガレートを含む緑茶葉抽出物と、  
カロチノイド色素と、  
を含有することを特徴とする活性酸素フリーラジカル消去剤。

FIG. 1



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP93/01525

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl<sup>5</sup> A61K35/78

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl<sup>5</sup> A61K35/78

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP, A, 2-264720 (Nikken Foods Co., Ltd.), October 29, 1990 (29. 10. 90), Claim	1
A	JP, A, 64-25726 (Yutoku Yakuhin Kogyo K.K.), January 27, 1989 (27. 01. 89), Claim	1
A	JP, A, 59-45385 (Zaidan Hojin Kyoiku Bunka Kenkyusho), March 14, 1984 (14. 03. 84), Claim	1

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

## \* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search December 15, 1993 (15. 12. 93)	Date of mailing of the international search report January 11, 1994 (11. 01. 94)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

Best Available Copy

## 国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP 93/01525

A. 発明の属する分野の分類(国際特許分類(IPC))

Int. CL<sup>5</sup> A61K35/78

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料(国際特許分類(IPC))

Int. CL<sup>5</sup> A61K35/78

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース(データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP・A, 2-264720(日研フード株式会社), 29. 10月. 1990(29. 10. 90), 特許請求の範囲	1
A	JP・A, 64-25726(祐徳薬品工業株式会社), 27. 1月. 1989(27. 01. 89), 特許請求の範囲	1
A	JP・A, 59-45385(財団法人 教育文化研究所),	1

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
 「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの  
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日  
 若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献  
 (理由を付す)  
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の  
 後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と  
 矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のため  
 に引用するもの  
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性  
 又は進歩性がないと考えられるもの  
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文  
 献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性  
 がないと考えられるもの  
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

15. 12. 93

国際調査報告の発送日

11. 01. 94

名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官(権限のある職員)

高 梨 操

4 C 7 1 6 7

①

電話番号 03-3581-1101 内線 3451

## C(続き) 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	14. 3月. 1984(14. 03. 84), 特許請求の範囲	